

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭНДОТЕЛИЯ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МОДЕЛИРОВАНИИ ПОСТТРОМБОТИЧЕСКОГО СИНДРОМА

*Сушков С.А., Небылицин Ю.С., Самсонова И.В., Клопова В.А.,
Пасевич Д.М., Демидов С.И., Кондратьева В.И.*

УО «Витебский государственный медицинский университет»

Актуальность. Совершенствование методов лечения пациентов с посттромботическим синдромом (ПТС) продолжает оставаться одним из актуальных вопросов сосудистой хирургии [1]. Роль эндотелиальной дисфункции определена в патогенезе многих заболеваний. Вместе с тем изменения состояния эндотелия при ПТС остаются не изученными. Таким образом, исследования направленные на изучение структурно-функционального состояния эндотелия кровеносных сосудов при ПТС являются актуальным.

Цель. Изучить структурно-функциональные изменения эндотелия при экспериментальном посттромботическом синдроме.

Материал и методы. Эксперимент выполнен на 110 беспородных крысах-самцах массой 300-350 грамм, (в качестве контроля исследовалась 10 здоровых крыс). Эксперименты осуществлялись в условиях полноценной анальгезии в операционной научно-исследовательской лаборатории в соответствии с требованиями «Этической комиссии Витебского государственного ордена Дружбы народов медицинского университета».

ПТС в эксперименте воспроизводили путем введения в бедренную вену через подколенный участок вены 0,3 мл подогретого до 37 – 37,5°C раствора тромбина (40 ЕД/кг). Материалом для морфологического исследования служили тромбированные и интактные вены крыс. Забор материала производили через 1, 3, 6, 24 часов, на 3-е, 6-е, 15-е, 30-е, 45-е и 90 сутки после операции.

Для световой микроскопии материал (фрагменты вен длиной до 1 см) фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. Из кусочков материала после обезвоживания в спиртах готовили серийные срезы толщиной 4-5 мкм, которые окрашивались общегистологическими методами: гематоксилином и эозином, по Харту, по методу ван Гизон, по Эйнарсону, и по Гейденгайну [2].

Количество циркулирующих эндотелиальных клеток (ЦЭК) в венозной крови у экспериментальных животных определяли по методу J. Hladovec (1978) [3].

Содержание стабильных продуктов деградации монооксида азота в плазме крови у экспериментальных животных определяли по методу Грисса. Конверсию нитратов в нитриты осуществляли цинковой пылью,

обработанной аммиачным комплексом сульфата меди, которую добавляли в пробирку с исследуемой плазмой [4].

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием пакета прикладных программ “Microsoft Excel 2007” и лицензионной программы “Statistica 10.0” (StatSoft, Inc. 2001).

Результаты. Исследование гистоструктуры стенки вены контрольных животных показало соответствие ее строения имеющимся в литературе описаниям. Четко определялись три оболочки: *tunica intima*, *tunica media* и *tunica adventitia*. При этом в просвете вены содержалось небольшое количество форменных элементов.

Первые часы характеризовались набуханием всех оболочек стенки вены, периваскулярным отеком. При этом в *tunica intima* эндотелий определялся на всей поверхности. Однако, при этом отмечались гофрированность эндотелиальной выстилки, набухание эндотелиоцитов. В сроки 3-6 часов просвет вены был заполнен тромботическими массами, представленными наряду с фибрином большим количеством эритроцитов, появлением гемосидерофагов.

К исходу первых суток эти изменения нарастали, появлялись участки десквамации эндотелия, отмечалось выраженное набухание *tunica media*, что, надо полагать, явилось следствием изменения проницаемости эндотелия и выхода компонентов плазмы из просвета сосуда. В заполняющем просвет сосуда тромбе отмечались распад и гомогенизация форменных элементов крови и нитей фибрина со слиянием детрита в гиалиноподобную массу. В местах соприкосновения тромба со стенкой вены определялись полиморфоядерные лейкоциты, были заметны тонкостенные полнокровные сосуды.

Морфологические изменения в стенке вен на 3-е и 6-е сутки после операции были однонаправленными и характеризовались наряду с дистрофическими изменениями преимущественно в *tunica intima* и *tunica media* явлениями реактивного воспаления в стенке с накоплением нейтрофилов, макрофагов, проникновение фибробластических элементов в тромб. Наряду с этим отмечались размножение клеток интимы, некротические изменения еще сохранившихся лейкоцитов.

15-е сутки характеризовались появлением в тромбе сосудистых щелей, которые были выстланы эндотелием (реканализация). При этом в нем наряду с фибробластами в толще тромба определялись формирующиеся волокнистые элементы. Адвентициальная оболочка вены утолщена и склерозирована. Несколько утолщена мышечная оболочка. Наружная и внутренняя эластические мембраны выражены хорошо.

На 30-е характеризовались появлением в толще тромба большого количества новообразующихся сосудов, что отражало явления реваскуляризации. В тромбе появляются щели, выстланные эндотелием.

На 45-е тромб был полностью замещен сетью мелких дифференцированных сосудов, что отражало завершение процесса реваскуляризации и определяло восстановление кровотока.

90-е сутки характеризовались образованием фиброзномышечной бляшки, стенозирующей просвет сосуда.

В контрольной группе количество ЦЭК составило 29,6; 24–34 клеток/100 мкл (Ме; 25%-75%). Через 1 и 3 часа после экспериментального моделирования ПТС количество ЦЭК статистически не отличалось от показателей контрольной группы. Через 6 часов количество ЦЭК оказалось повышенным на 56,8% ($p < 0,05$). В первые сутки после экспериментального моделирования ПТС отмечалось увеличение количества ЦЭК на 58,8% ($p < 0,05$). Через 3-е суток содержание ЦЭК было увеличено на 38,2%. Через 7 суток содержание ЦЭК было на 44,3% выше ($p < 0,05$), чем в контроле. На 45-е сутки количество ЦЭК было выше на 29,4% ($p < 0,05$). На 90-е сутки количество ЦЭК статистически не отличалось от показателей контрольной группы.

Содержание NO_2/NO_3 в плазме через 1 час статистически не отличалось от показателей контрольной группы. Через 3 и 6 часов содержание NO_2/NO_3 в плазме было выше на 29% и 26% соответственно. В первые сутки содержание NO_2/NO_3 в плазме оказалось повышенным на 38,4%. Через 3 и 7 суток содержание NO_2/NO_3 в плазме было выше на 54,9% и 23,4% в сравнении с показателями в контрольной группе. На 15-е и 30-е сутки наблюдения содержание NO_2/NO_3 в плазме животных оказалось выше на 24,1% и 29,5%, чем в контроле ($p < 0,05$). На 45-е сутки содержание NO_2/NO_3 в плазме статистически не отличалось от показателей контрольной группы. На 90-е сутки содержание NO_2/NO_3 в плазме животных оказалось выше на 43,6% чем в контроле ($p < 0,05$).

Выводы.

1. В ранние сроки после экспериментального моделирования посттромботического синдрома наблюдаются нарушения целостности цитоплазматической мембраны, деструкция эндотелиоцитов кровеносных сосудов. Деструктивные изменения эндотелия в ранние сроки сочетаются с дистрофическими изменениями гладких миоцитов средней оболочки, а также коллагеновых и эластических волокон. Наряду с этим в адвентициальной оболочке и в периадвентициальной зоне постепенно развивается мезенхимально-сосудистая реакция с пролиферацией клеток, новообразованием капилляров, формированием коллагеновых волокон.

2. Увеличение числа циркулирующих эндотелиоцитов в крови на фоне повышения содержания в плазме крови нитратов/нитритов свидетельствует о развитии существенно выраженной дисфункции эндотелия при посттромботическом синдроме.

Литература:

1. Хрыщанович, В. Я. Посттромботическая болезнь: диагностика, лечение, профилактика / В. Я. Хрыщанович // Новости хирургии. – 2013. – № 3. – С. 120–128.
2. Волкова, О. В. Гистология, цитология и эмбриология. Атлас : учеб. пособие / О. В. Волкова, Ю. К. Елецкий. – М. : Медицина, 1996. – 544 с.
3. Hladovec, J. Circulating endothelial cells as a sign of vessels wall lesions / J. Hladovec // Physiologia bohemoslovaca. – 1978. – Vol. 27. – P. 140–144.
4. Веремей, И. С. Модифицированный метод определения NO_3 и NO_2 с помощью цинковой пыли в присутствии аммиачного комплекса сульфата меди / И. С. Веремей, А. П. Солодков, С. С. Осочук // Дисфункция эндотелия: эксперим/ и клин. исследования : сб. тр. респ. науч.-практ. конф. – Витебск : ВГМУ, 2000. – С.112–115.

ДИСФУНКЦИЯ ЭНДОТЕЛИЯ У ПАЦИЕНТОВ С ПОСТТРОМБОТИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

*Сушков С.А., Небылицин Ю.С., Пасевич Д.М.,
Демидов С.И., Кондратьева В.И.*

УО «Витебский государственный медицинский университет»

Актуальность. Высокая распространенность посттромботического синдрома (ПТС) нижних конечностей и вызываемое им снижение качество жизни пациентов делают проблему прогнозирования течения заболевания и лечения данной патологии весьма актуальной [1, 2, 3].

Цель. Изучить функциональные изменения эндотелия кровеносных сосудов у пациентов с посттромботическим синдромом.

Материал и методы. Обследовано 55 пациентов с посттромботическим синдромом (ПТС) в период с 2016 по 2017 гг. (мужчин – 37, женщин – 18), госпитализированных в УЗ «Витебский областной клинический специализированный центр». Возраст пациентов варьировал от 23 до 68 лет и составлял $51,6 \pm 13,2$ года ($M \pm \sigma$). При сравнении обследуемых групп в качестве контроля исследовались 20 практически здоровых людей. Группа сравнения и исследуемая группа были сопоставимы по полу и возрасту.

Определение эндотелина-1 в плазме крови проводили с помощью иммуноферментного набора «Quantikine ELISA» и колонок для аффинной хроматографии в соответствии с приложенной инструкцией.

Количество циркулирующих эндотелиальных клеток (ЦЭК) в венозной крови у пациентов с ПТС определяли по методу J. Hladovec (1978) в модификации Т.Д. Власова (1998) [4]. Он основан на изоляции клеток эндотелия из крови вместе с тромбоцитами с последующим осаждением последних с помощью аденозиндифосфата. Количество клеток подсчитывали в 100 мкл бедной тромбоцитами плазмы в камере Горяева при световой